Cryptogamie, Mycol. 1987, 8 (2) : 159-166

DOCUMENTOS PARA LA CARACTERIZACION DE LOS ASCOS DEL GENERO *OPEGRAPHA* ACH.

por P. TORRENTE-PAÑOS*

RESUMEN — [redacted] estudio con microscopio óptico de los ascos de tres especies del género *Opegrapha* muestra en la especie tipo (*O. vulgata* auct.) que el endoascus interno es amiloide y que en él se diferencia un anillo así mismo amiloide. Aunque próximo, los ascos de *O. atra* son ligeramente diferentes. El interés del orden Opegrafales desde el punto de vista evolutivo queda de manifiesto

RÉSUMÉ — L'étude en microscopie ordinaire des asques de divers *Opegrapha* montre que chez l'espèce-type (*O. vulgata* auct.) l'endoascus interne est amyloïde et qu'il se différencie en un anneau également amyloïde. Bien qu'analogues les asques de *O. atra* sont légèrement différents. L'intérêt des Opegraphales d'un point de vue évolutif est souligné.

SUMMARY — The microscopic study of asci in some *Opegrapha* species shows that in the type species *O. vulgata* auct. the internal part of the endoascus is amyloid and differentiated into an annulus which is also amyloid. The asci of *O. atra* are similar but slightly differ. The evolutionary interest of Opegraphales is pointed out.

MOTS CLÉS : *Opegrapha*, lichen, asque.

INTRODUCCION

El orden Opegrafales recientemente definido por ERIKSSON & HAWKSWORTH (1986a, b) incluye, según estos autores solamente dos familias, Opegrafáceas Stizb. y Roceláceas Chev. que se distinguen esencialmente por los caracteres del talo y de las fructificaciones. Dentro del marco de un trabajo sistemático sobre las Opegrafáceas mediterráneas y los géneros emparentados, y teniendo en cuenta el interés de la estructura de los ascos en la sistemática de los líquenes (HAFELLNER, 1984), presentamos en este artículo preliminar los resultados obtenidos del estudio, con microscopía óptica, de los ascos del género *Opegrapha*, tipo de la familia Opegrafácea (SANTESSON, 1984). Estos han sido considerados de forma general por varios autores: MAGNE (1946) aporta figuras de *O. atra* y los incluye entre los ascos que presentan nasa apical,

* Departamento Botánica, Facultad de Biología, Murcia, España.

LETROUIT-GALINOU & AMBROISE (1963), CHADEFAUD (1960) y CHADEFAUD & al. (1968) confirman que en *O. viridis* los ascos son de tipo bitunicado con nasa apical. Su dehiscencia fisitunicada (= 'Jack-in-the-box') es mencionada por RICHARDSON & MORGAN-JONES (1964), que además añaden figuras ilustrándola (ERIKSSON, 1981; SERUSIAUX, 1985).

ERIKSSON (1981) estudió con detalle los ascos maduros de *O. vulgata* auct. (especie tipo del género) y los describe formados por una ectotúnica delgada y una endotúnica también delgada en la mitad superior y no visible al microscopio óptico en la mitad inferior. Esta endotúnica está formada por dos capas, de las cuales, la más interna se tiñe de rojo con IKI y azul con KOH/IKI (especialmente en la región ocular), pero sin estructura en anillo y sin cámara ocular, o con esta muy pequeña, pero no hace ninguna ilustración precisa del ápice.

En *O. lambinonii*, SERUSIAUX (1985) observa que el exoascus se engruesa bastante con KOH y que el endoascus es ligeramente amiloide en toda su longitud con un anillo amiloide en el ápice (neto con KOH más lugol), este mismo autor adjunta fotos excelentes en las que se puede observar también la nasa apical.

En lo que respecta a las esporas, la presencia de una capa externa gelatinosa más o menos espesa ha sido mencionada y representada por varios autores en diferentes especies del género : VEZDA (1970), *O. parasitica*; ERIKSSON (1981), *O. vulgata*, *O. viridis*; CLAUZADE & ROUX (1985), *O. dolomitica*; SERUSIAUX (1985), *O. lambinonii*.

En este artículo incluimos láminas con los ascos en distintos estados de desarrollo, de tres especies de *Opegrapha*, una de ellas la especie tipo del género.

MATERIAL Y METODOS

Opegrapha vulgata auct.

ARGELIA : Bejaia. Cap Carbon. 100 m.s.m. s/ *Quercus* sp. 3-IV-1985. Leg.-P. Torrente (Herb. MUB). – ESPAÑA : Barcelona. Garraf. Olesa de Bonesvalls DF 08, 400 m.s.m. s/ *Quercus ilex*. 10-VI-1984. Leg.-A. Gomez-Bolea (Herb. BCC nº 3037 como *Opegrapha devulgata* Nyl.). — ESPAÑA : Girona. Alt Empordá. Camping Almata. EG 07. s/ *Ulmus* sp. 23-XI-1980. Leg. A. Gomez-Bolea (Herb. BCC nº 3038). — ESPAÑA : Valencia. Alzira. Bco. de la Murta. s/ *Quercus rotundifolia*. 26-VI-1981. Leg.-V. Atienza (Herb. VAB nº 302). — ESPAÑA : Pontevedra. Lourizan UTM 29 TNG 2793. s/ *Platanus orientalis*. 13-IV-1982. (Herb. MUB). — MARRUECOS : Fedhala. Au bord d'une source. s/ *Ficus carica*. VII-1931. Leg.-I. Gattefossé (Herb. Werner como *Opegrapha devulgata* Nyl.). — MARRUECOS : Rabat. Tour Hassan. s/ *Ficus carica*. 19-I-1930. Leg.-R.G. Werner (Herb. Werner como *Opegrapha atra* Pers. *V. reticulata* (DC.) Schaer).

Opegrapha betulinoides B. de Lesd.

ARGELIA : Bejaia. Cap Carbon. 100 m.s.m. s/ *Phyllirea* sp., *Quercus* sp., *Pinus halepensis*. 3-IV-1985. Leg. P. Torrente (Herb. MUB). — ARGELIA : Tipasa. Djebel Chenaua. 10-50 m.s.m. s/ *Pistacia lentiscus*, *Ceratonia siliqua*, *Quercus coccifera*, *Tetraclinis articulata*. 23-III-1986. Leg.-P. Torrente -I. de Lara (Herb. MUB). — ESPAÑA : Alicante, Jávea. Cabo San

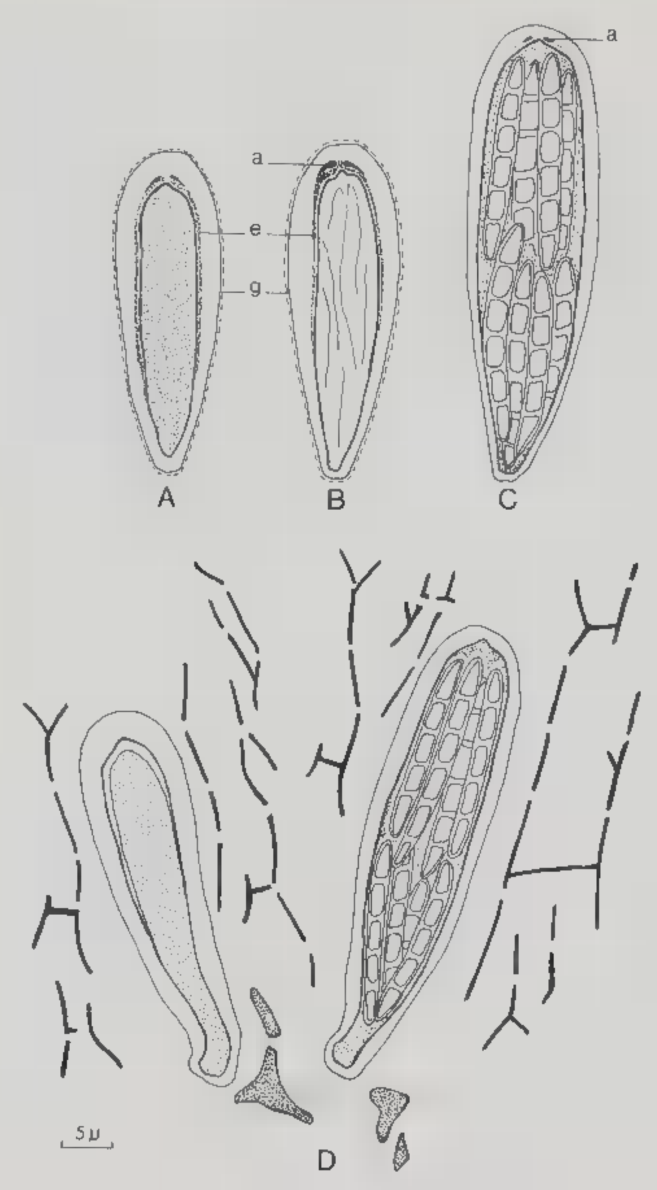


Fig. 1 : *Opegrapha vulgata* (Ach.) Ach. – A : Asco joven (KOH + IKI). B : Asco antes de la formación de esporas (KOH + IKI). C : Asco maduro (KOH + IKI). D : Corte transversal del himenio (lactofenol-azul algodón).
(a : anillo amiloide; e : endoascus interno; g : gelatina periascal).

Fig. 1 : *Opegrapha vulgata* (Ach.) Ach. – A : Asque jeune. B: Asque au cours de la formation des spores. C : Asque en maturation. D : Coupe transversale de l'hyménium.
(a : anneau amyloïde; e : endoascus interne; g : gélin périascal).

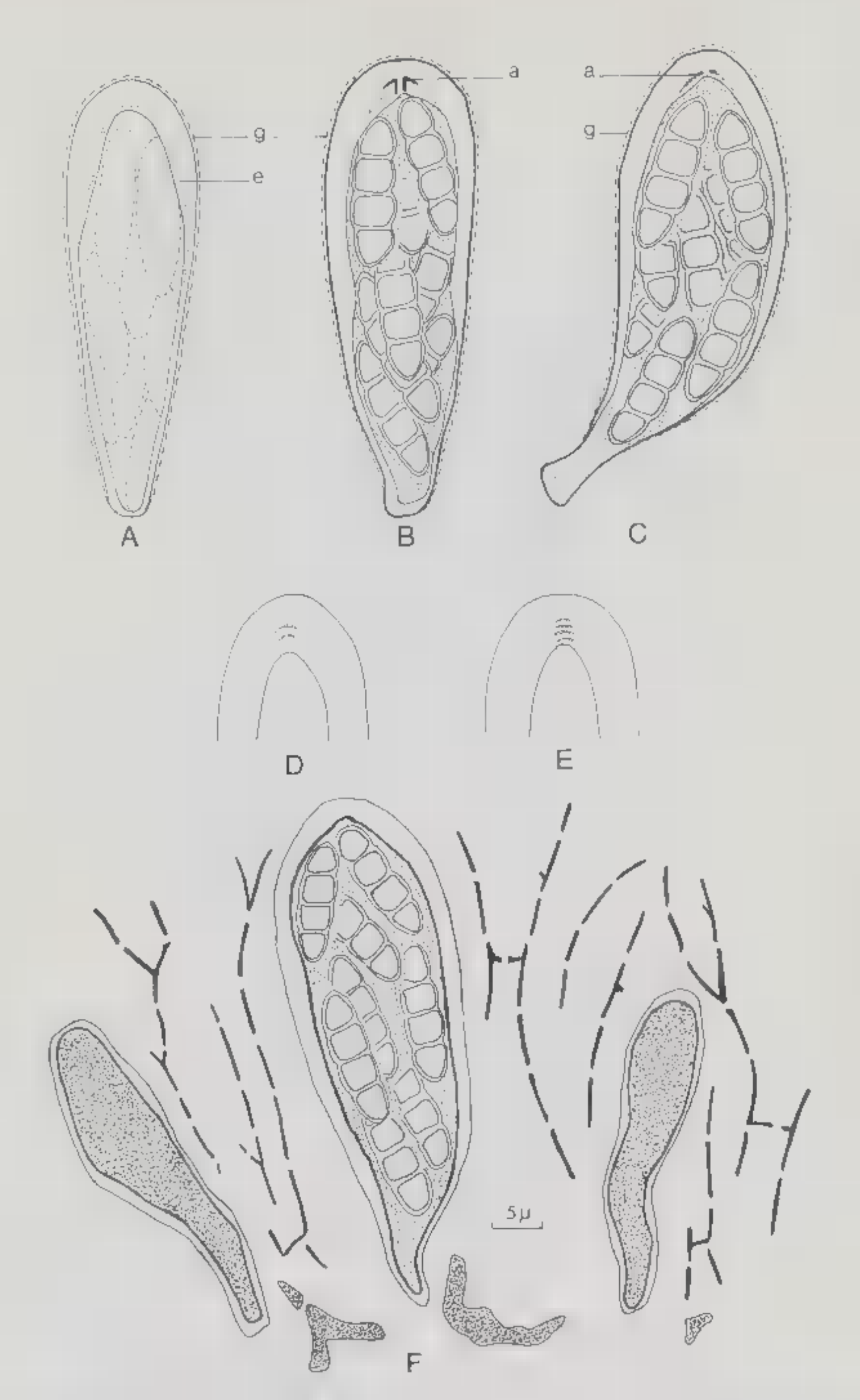


Fig. 2 : *Opegrapha betulinoides* B. de Lesd. – A : Asco antes de la formación de esporas (KOH/IKI). B : Asco antes de la maduración (KOH/IKI). C : Asco maduro (KOH/IKI). D-E : Detalles del aparato apical (KOH/IKI). F : Corte transversal del himenio (lacto-fenol-azul algodón). – (a : anillo apical; e : endoascus interno; ▒ : gelatina periascal).

Martín. BC 5994. 50 m.s.m. s/ *Pinus halepensis*. 1-V-1986. Leg. P. Torrente-V. Atienza (Herb. MUB). – ESPAÑA : Valencia. Alzira. Barranco de la Murta. O m.s.m. s/ *Olea europaea*. 26-VI-1981. Leg.-V. Atienza (Herb. VAB nº 299). – ITALIA : Ligurie occid. Varazze. Cupressicola. VIII-1949. Leg. -C. Sbarbaro (Herb. Werner). – MARRUECOS : Région de Safi près du Cap Cautin, sur des oliviers 2-VIII-1938. Leg.- Faurel (Herb. Werner). – MARRUECOS : Tanger Cabo Spartel. 30-100 m.s.m. s/ *Pistacia lentiscus, Olea europaea*. 14-IV-1984. Leg.-J.M. Egea. (Herb. MUB). – PORTUGAL : Estremadura : Monte Real. Olival do Viez. sur écorce d'*Olea*. Mai-1943. Leg.- A.O. Melquiades (Herb. Werner).

Opegrapha atra Pers.

ARGELIA : Bejaia. Cap Carbon s/ *Ceratonia siliqua* 3-IV-1985. Leg.-P. Torrente (Herb. MUB). - ARGELIA : Oran. Ain el Türk. Les Andalouses. 25-50 m.s.m. s/ *Ficus carica*. 30-III-1986. Leg. P. Torrente (Herb MUB). – ESPAÑA : Alicante. Jávea. Morró del Pino-Playa Granadella. BC 5691. 130 m.s.m. s/ *Rhamnus* sp., *Rhamnus alaternus, Ceratonia siliqua, Cupressus* sp. 2 V-1986. Leg P. Torrente-V. Atienza (Herb. MUB). – ESPAÑA : Alicante. Calpe. Peñon de Ifach. BC 4580. 332 m.s.m. s/ *Pistacia lentiscus*. 1-V-1983. Leg.-J.M. Egea (Herb MUB). – ESPAÑA : Barcelona. Vallès Oriental, Montseny : Turó de l'Home. DG 52.1400 m.s.m. s/ *Abies alba*. 21-IX-1980. Leg. A. Gomez-Bolea (Herb. BCC nº 3046). – ESPAÑA : Girona. Selva, Tossa : Cala Bona. DG 92. 10 m.s.m. s/ *Quercus suber*. 23-VI-1984. Leg.- A. Gomez-Bolea (Herb. BCC nº 2974). – ESPAÑA : Girona. Tossa. Cala Bona. 31 TDG 92. 10 m.s.m. s/ *Quercus suber*. 24-VII-1985. Leg.- M. Boqueras (Herb. MUB). – ESPAÑA : Melilla. Los Pinos. s/ *Pinus halepensis*. 20-III-1986. Leg.-R. Ros (Herb. MUB). – ESPAÑA : Pontevedra. Lourizán. UTM : 29 TNG 2793. s/ *Platanus orientalis*. 14-IV-1982. (Herb. MUB). – ESPAÑA : Valencia. Alcira. Murta. s/ *Celtis australis*. 3-V-1981. Leg. V. Atienza (Herb. MAF nº 52). – ESPAÑA : Valencia. Saler. 0 m.s.m. s/ *Ceratonia siliqua* 25-XI-1983. Leg.- V. Atienza (Herb. VAB nº 305). – MARRUECOS : Fedhala, sur *Ficus carica* au bord d'une source VII-1931. Leg.- J. Gattefossé (Herb. Werner). – TUNEZ : Kelibia. El Haouaria Cabo Bon. 100 m.s.m. aprox. s/ *Phyllirea* sp., *Pistacia lentiscus, Acacia* sp. 29-III-1986. Leg.- P. Torrente-I.de Lara (Herb. MUB).

El estudio se ha realizado al microscopio óptico partiendo de cortes de 15-20 µm realizados con microtomo de congelación. Las preparaciones se han montado en lactofenol-azul de algodón, para poner de manifiesto la nasa apical (CHADEFAUD, 1942; MAGNE, 1946), o bien, en agua para ver posteriormente, la reacción de las sustancias amiloides con el lugol. En este último caso se trataba primero con KOH y después se añadía el lugol. Este doble tratamiento (KOH/IKI) ya había sido utilizado por LETROUIT-GALINOU (1973), ERIKSSON (1981) y SERUSIAUX (1985) y todos anotan diferencias en la coloración del asco. En nuestra opinión estas transformaciones no son debidas a ningún cambio estructural sino que tan solo se desenmascara algún carácter de naturaleza amiloide.

Fig. 2 : *Opegrapha betulinoides* B. de Lesd. – A : Asques au début de la formation des spores. B : Asques en début de maturation. C : Asque en fin de maturation. D-E : Détails de l'appareil apical. F : Coupe transversale de l'hyménium.
(a : anneau apical; e : endoascus interne; g : gélin périascal).

RESULTADOS

Después del estudio de *O. vulgata* auct., especie tipo del género *Opegrapha*, los ascos se pueden caracterizar de la siguiente forma (Fig. 1) :

1 - Claviformes y con pie corto.

2 - Pared formada por un 'exoascus' delgado y refringente rodeado por una gelatina insensible al KOH/IKI y por un 'endoascus', cuyo grosor varía dentro de la especie según el estado de desarrollo del asco, de forma similar a la señalada por BELLEMERE & HAFELLNER (1982) en bitunicados-fisitunicados. En general el 'endoascus' es más grueso en la parte superior donde se ve bien que está formado por dos capas (endoascus externo e interno, sensu CHADEFAUD, 1973) de las cuales la más interna es netamente amiloide después de tratar con KOH/IKI.

3 - Un caracter del género *Opegrapha* es la presencia de un anillo apical amiloide situado en la parte interna del endoascus y de tamaño variable según el estado del asco.

El estudio del desarrollo del anillo, seguido más claramente en *O. betulinoides* (Fig. 2 D, E, B), muestra que al principio está formado por láminas arqueadas superpuestas que después se fusionan y forman un tubo sobre el cual se va a diferenciar el anillo que perdura en los ascos maduros.

4 - Dehiscencia de tipo 'Jack-in-the-box' (= fisitunicada sensu ERIKSSON, 1981), en la que el exoascus se rompe y el endoascus sale alargandose para posteriormente liberar las esporas.

5 - Esporas generalmente en numero de ocho por asco, pluriseptadas y con una perispora patente.

En la especie *O. betulinoides* (Fig. 2) los caracteres del aparato apical son análogos a los de *O. vulgata*, pero la cámara ocular es casi inapreciable.

En *O. atra* (Fig. 3) los ascos son algo diferentes a *O. vulgata*; la forma es más subglobosa, la gelatina que rodea al asco fuertemente amiloide, el anillo más reducido, la cámara ocular relativamente grande y en ella se distingue bien una nasa apical.

DISCUSION

El género *Opegrapha* todavía poco conocido podría ser heterogéneo (SERUSIAUX, 1985). Desde el punto de vista solo de los ascos, esta opinión se confirma, los de *O. atra* difieren de los de *O. vulgata* auct.

El examen de los ascos de la especie tipo del género, confirma y precisa las observaciones de ERIKSSON (1981). Podemos decir que los ascos de *Opegrapha* se aproximan al tipo 'archaeascé' descrito por GALINOU & CHADEFAUD (1953) y caracterizado, según LETROUIT-GALINOU (1973), por la presencia de pared y domo apical espesos y amiloides, generalmente con diferenciaciones

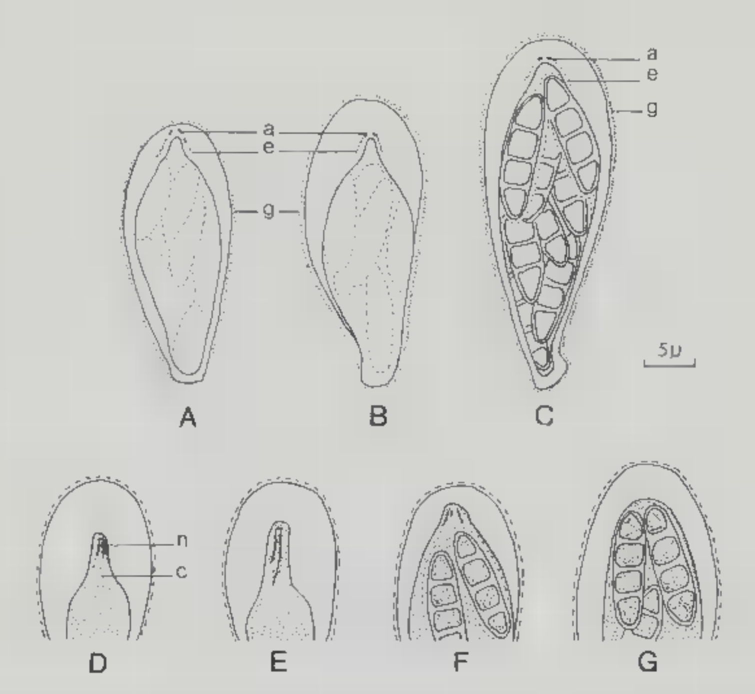


Fig. 3 : *Opegrapha atra* Pers. – A : Asco antes de la formación de las esporas (KOH/IKI). B : Asco un poco más desarrollado que en A. (KOH/IKI). C : Asco maduro (KOH/IKI). D a F : Aspecto del asco en distintos estados de desarrollo (lactofenol-azul algodón). (a : anillo amiloide; c : cámara ocular; e : endoascus interno; g: gelatina periascal amiloide; n : nasa apical).

Fig. 3 : *Opegrapha atra* Pers. – A : Asque au cours de la formation des spores. B : Asque à un stade un peu plus âgé que A. C : Asque mûr. D à F : Apex de l'asque à quatre stades successifs du développement.
(a : anneau amyloïde; c : chambre oculaire; e : endoascus interne; g : gélin periascal; n : nasse apicale).

anulares, con una nasa apical que en ocasiones puede faltar y con dehiscencias particulares (entre ellas el tipo 'Jack-in-the-box' de *Rocella* y *Dirina*).

La presencia de un tipo de asco similar al de *Opegrapha* (género tipo de la famılla Opegrafáceas) debe ser confirmado en los diferentes géneros de la familia. Con el aparato apical aquí descrito se da un caracter más que acerca el género *Opegrapha* a *Lecanactis* y a otros géneros anteriormente incluidos en la familia Lecanactidáceas y caracterizados por la presencia de un anillo amiloide similar al de Roceláceas (HENSSEN & al., 1979).

Para terminar se anotará que el anillo amiloide de los ascos es perceptible con microscopia electrónica de transmisión en el género *Roccella*, pero no ha sido observado en *O. varia* (BELLEMERE & LETROUIT-GALINOU, 1987).

El orden Opegrafales parecen interesante desde el punto de vista evolutivo pues a las variaciones de los ascos se unen las de la morfología del talo y los ascocarpos.

BIBLIOGRAFIA

BELLEMÈRE A. et HAFELLNER J., 1982 — Étude ultrastructurale des asques bituniqués de l'*Hysterographium fraxini* (Pers. ex Fr.) de Not. (Ascomycètes, Hystériales) : Développement de la paroi et déhiscence. *Cryptogamie, Mycol.* 3 : 261-295.

BELLEMÈRE A. and LETROUIT-GALINOU M.A., 1987 — Differentiation of Lichen asci including dehiscence and sporogenesis : an ultrastructural survey. *In* : PEVELING E., *Progress and Problems in Lichenology in the Eighties. Bibliotheca Lichenologica*. J. Cramer (sous presse).

CHADEFAUD M., 1942 — Étude d'asques. II : Structure et anatomie comparée de l'appareil apical des asques chez divers Disco- et Pyrénomycètes. *Rev. Mycol. (Paris)* 7 : 57-88.

CHADEFAUD M., 1960 — Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). *In* : M. CHADEFAUD & L. EMBERGER, *Traité de Botanique Systématique*. Tome I, Paris, Masson. XV + 1018 p., 713 fig.

CHADEFAUD M., LETROUIT-GALINOU M.A. et JANEX-FAVRE M.C., 1968 — Sur l'origine phylogénique et l'évolution des Ascomycètes des Lichens. *Bull. Soc. Bot. France*, Mémoires (Colloque sur les Lichens, Paris 1967) : 79-111.

CHADEFAUD M., 1973 — Les asques et la systématique des Ascomycètes. *Bull. Soc. Mycol. France* 89 : 127-170.

CLAUZADE G. et ROUX C., 1985 — *Likenoj de Okcidenta Europo. Ilustrita determinlibro*. Royan, Société Botanique du Centre-Ouest.

ERIKSSON O., 1981 — The families of bitunicate ascomycetes. *Opera Bot.* 60 : 1-22.

ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1986a — Notes on Ascomycete Systematics, Nos 1-224. *Systema Ascomycetum* 5 (1) : 113-184.

ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1986b — Outline of the Ascomycetes-1986. *Systema Ascomycetum* 5 (2) : 185-324.

GALINOU M.A. et CHADEFAUD M., 1953 — Sur l'asque des lichens du genre *Pertusaria* et son importance phylogénétique. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 237 : 1178-1180.

HAFELLNER J., 1984 — Studien in Richtung einer natürlicheren Gliederung der Sammelfamilien Lecanoraceae und Lecideaceae. *In* : HERTEL H. & OBERWINKLER F., *Festschrift J. Poelt*. Vaduz, J. Cramer : 241-371.

HENSSEN A., RENNER B. and VOBIS G., 1979 — *Sagenidium patagonicum*, a new South American Lichen. *Lichenologist* 11 : 263-270.

LETROUIT-GALINOU M.A. et AMBROISE D., 1963 — Sur l'ascocarpe, les asques et la position systématique des lichens du g. *Opegrapha* Ach. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 256 : 1576-1578.

LETROUIT-GALINOU M.A., 1973 — Les asques des Lichens et le type archaeascé. *The Bryologist* 76 : 30-47.

MAGNE F., 1946 — Anatomie et morphologie des asques de quelques lichens. *Rev. Bryol. Lichénol.* 15 : 203-209.

RICHARDSON D.H. and MORGAN-JONES G., 1964 — Studies on lichen asci. I. The bitunicate type. *Lichenologist* 2 : 205-224.

SANTESSON R., 1984 — The Lichens of Sweden and Norway. Stockholm, Swedish Museum of Natural History, 333 p.

SÉRUSIAUX E., 1985 — Goniocysts, Goniocystangia and *Opegrapha lambinonii* and related species. *Lichenologist* 17 : 1-25.

VĚZDA A., 1970 — Beitrag zur Kenntnis der Flechten bewohnenden Pilze aus der Tschechoslovakei III. *Česká Mykol.* 24 : 200-229.

